

# Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan.

## ABSTRACTS

from

### TRANSACTIONS published in JAPANESE

(Pages refer to the Japanese originals of this volume unless otherwise noticed)

**Studies on the Amylase of Yeast. VI.**—On the Enzym-chemical properties (3). Thermostability of Yeast Amylase. (pp. 191~195): By Kazuki ONO. (Biochemical Laboratory of Taihoku Imperial University, Japan.)

**Die Isolierung von Gärkraftige Hefen (3).** (S. 196~203): Von Y. TAKEDA. (Department of Industry, Government Research Institute, Taiwan, Japan.)

**Über die Oberflächenaktivität und die Adsorbierbarkeit von Aminosäuren. V. und VI. Mitteilung.** (S. 204~215): Von Takeo ITO. (Aus dem Chemischen Laboratorium in Seidenbau-Hochschule, Kyoto.)

#### V. VERSUCHE MIT DIAMINOSÄUREN.

Wir haben in den vorangehenden Versuchen<sup>(1)</sup> festgestellt, dass die  $\alpha$ -Aminodicarbonsäuren wie Asparagin- und Glutaminsäure merklich an Kohle adsorbiert werden, obwohl sie oberflächeninaktiv sind. Ausserdem zeigten sie je eine Maximumadsorption im betreffenden isoelektrischen Punkt (pH<sub>I</sub>). Ganz ähnlich verhalten sich, wie wir demnächst sehen werden, die Diaminosäuren wie Lysin, Arginin und Histidin.

Es wurden stets 0,05 mol. Diaminosäurelösungen, deren pH durch NaOH- bzw. HCl-Zusatz variiert worden war, sowohl für die Versuche der Oberflächenaktivität als auch für die Adsorptionsversuche verwendet. Da bekanntlich die angeführten Diaminosäuren sich in freiem Zustande nicht bequem behandeln lassen, wurden sie in Form ihrer salzsauren Salze angewendet, so dass die erwähnten Versuchslösungen wechselnde Menge NaCl von 0 bis auf 0,1 Mol pro Liter enthielten. Natriumchlorid<sup>(2)</sup> jedoch in solchen kleinen Konzentrationen weder erhöht die Oberflächenspannung des Wassers merklich (nach Heydweiler nicht um mehr als 0,3%) noch ist erheblich an Kohle

adsorbierbar, deshalb werden wir seine Wirkungen in dieser Hinsicht vernachlässigen können.

In Tabelle I sind die Resultate der Oberflächenspannungsmessungen zusammengestellt. Daraus ersieht man, dass die drei untersuchten Diaminosäuren im Bereiche von  $\text{pH} = 1$  bis 13 kaum auf die Oberflächenspannung des Wassers einwirken; sie sind also weder als neutrales Molekül noch als Ionen oberflächenaktiv.

TABELLE I. Die relative Oberflächenspannung  $\sigma$  der 0.05 mol. Diaminosäurelösungen.  
Temperatur:  $18^{\circ} \pm 0,5$

Lysin		Arginin		Histidin	
pH	$\sigma$	pH	$\sigma$	pH	$\sigma$
1,838	0,999	1,325	1,000	1,077	1,001
2,416	1,000	1,813	1,000	1,782	1,000
3,158	1,000	2,279	1,000	3,962	1,002
4,286	0,999	3,385	1,000	5,828	1,000
7,063	1,000	5,926	0,999	7,575	1,001
9,098	1,000	8,169	0,999	9,147	1,001
10,009	1,000	8,704	0,998	10,394	1,000
11,682	1,000	10,319	0,999	12,695	1,003
		10,675	0,999		
		11,184	0,998		
		12,657	1,002		
		12,884	1,002		

Fig. 1 stellt die Resultate der Adsorptionsversuche dar, wobei als

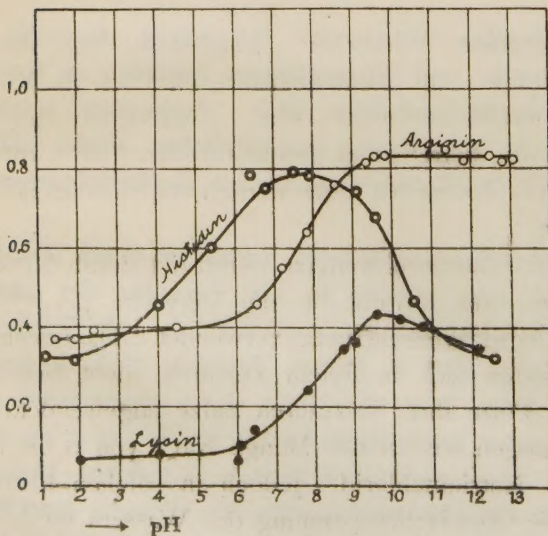


Fig. 1.

Ordinaten die adsorbierten Diaminosäuremengen in Millimol/g Kohle, als Abszissen die pH der Gleichgewichtslösungen aufgetragen sind. Wie aus der Figur ersichtlich, zeigt Histidin eine Maximumadsorption bei  $\text{pH}=7,5$ , und Lysin eine solche bei  $\text{pH}=9,5$ .

Die Kurve für Arginin liegt anfangs niedriger im Gebiete von  $\text{pH}=2$  bis 6, dann steigt mit zunehmendem pH steil an, um schliesslich in dem den isoelektri-



schen Punkt (=10,76 bei 25°)<sup>(3)</sup> einschliessenden Bereiche parallel zur pH-Achse zu verlaufen. Dieser Kurvenverlauf dürfte folgendermassen gedeutet werden: Wie aus den auf Grund der Daten<sup>(3)</sup> für die Dissoziationskonstanten des Arginins durchgeführten Berechnungen hervorgeht, ist Arginin im pH-Gebiete von 1 bis 5,60 überwiegend als ein- oder zweiwertige Kationen vorhanden, und als solche ist es nicht erheblich adsorbierbar. Vom pH=5,60 an nimmt die Zahl der neutralen Moleküle mit steigendem pH auf Kosten der Kationen rasch zu, worauf das oben erwähnte, in demselben pH-Gebiete stattfindende steile Aufsteigen des Kurventeils zurückzuführen ist, Arginin ist also als neutrales Molekül viel stärker adsorbierbar wie als Kationen. Der horizontale Verlauf des Kurventeils auf der rechten Seite vom pH=9,5 würde darauf hindeuten, dass das Anion, welches sich bei zunehmendem pH auf der alkalischen Seite des pHI auf Kosten des neutralen Moleküls vermehrt und bei z.B. pH=13 rechnungsgemäss den rund 77%-igen Anteil des in der Gleichgewichtslösung vorhandenen Arginins ausmacht, ebenso stark adsorbierbar ist wie das neutrale Molekül.

Die in dergleichen Weise durchgeführte Analyse der Adsorptionskurve für Lysin, welche ein Maximum annähernd im pHI des Lysins (=9,74 bei 25°) zeigt, wird zu den analogen Folgerungen wie im Falle des Arginins führen, nur mit dem Unterschiede, dass hier das neutrale Molekül ziemlich stärker als das Anion adsorbierbar ist.

Im Falle des Histidins, dessen pHI bei 25° 7,59 gleich ist, lehrt der Kurvenverlauf, dass es als neutrales Molekül am höchsten adsorbierbar ist, worauf bereits von Phelps und Peters<sup>(4)</sup> hingewiesen worden ist, während die beiden Ionen-Formen anscheinend gleichgrosse Adsorbierbarkeit aufweisen.

• Auf Grund der oben Gesagten besteht folgende Reihenfolge (nach fallender Adsorbierbarkeit geordnet): für Lysin und Arginin: neutrales Molekül  $\geq$  Anion  $>$  Kationen, und für Histidin: neutrales Molekül  $>$  Anion = Kationen.

Hier sind also die Kationen am niedrigsten adsorbierbar im Gegensatz zu dem Falle der  $\alpha$ -Aminodicarbonsäuren,<sup>(1)</sup> bei welchen die Anionen durch Kohle nicht oder nur wenig aufgenommen werden.

## VI. VERSUCHE MIT DEN STELLUNGSISOMEREN DER MONOAMINOSÄUREN.

Überblicken wir die von uns bisher gewonnenen Versuchsergebnisse, so finden wir, dass die polaren Gruppen wie NH<sub>2</sub> und COOH in den Molekülen oberflächenaktiver  $\alpha$ -Aminomonocarbonsäuren an einem Ende der Kohlenstoffkette verbunden sind, während sie sich bei den untersuchten  $\alpha$ -Aminodicarbonsäuren und Diaminosäuren, die sämtlich als oberflächeninaktiv bestätigt worden sind, an den beiden Kettenenden befinden. Dieses Zusammenhang zwischen der Oberflächenaktivität und der Stellung der polaren Gruppen im Molekül scheint von allgemeinerer Natur zu sein, weil auch Stoffe<sup>(5)</sup> wie Glyzerin, Malon-, Bernstein-, Äpfel- und Weinsäure u.a.m. kaum auf die



Oberflächenspannung des Wassers einwirken. Somit liegt es nahe zu vermuten, dass auch bei den Monoaminomonocarbonsäuren die Oberflächenaktivität in dem Masse abnehmen werde, als sich der Abstand der Amino- von der Carboxylgruppe vergrößert. Daher wurden in der vorliegenden Arbeit als Untersuchungsmaterial die Stellungsisomere der Aminovalerian- und Aminocaprinsäure, d.s.  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Aminovaleriansäure und  $\alpha$ - und  $\epsilon$ -Aminocaprinsäure gewählt.

1. Die Resultate der Oberflächenspannungsmessungen an Lösungen der angeführten Aminosäuren von wachsender Konzentration sind in Fig. 1 graphisch zusammengestellt.

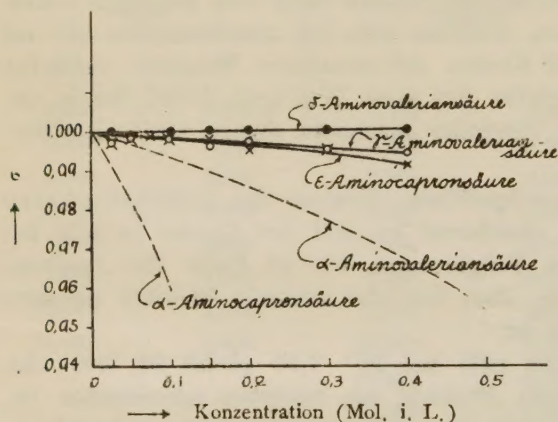


Fig. 2.

Erwartungsgemäss lautet, wie aus der Figur ersichtlich, die Reihenfolge der Oberflächenaktivität für Aminovaleriansäuren:  $\alpha > \gamma > \delta$ , und für Aminocaprinsäuren:  $\alpha > \epsilon$ .

Gemäss der Gibbsschen Adsorptionsformel müssen diese Aminosäuren entsprechend den angegebenen Reihen an der Grenzfläche Luft/Wasser adsorbierbar sein. Als solche Ad-

sorption bedingende Faktoren<sup>(6)</sup> dürfen wir die Länge der nichtpolaren Kohlenstoffkette einerseits und die Affinität der polaren Gruppen zum Wasser andererseits u.a.m. hervorheben. Je länger die Kohlenstoffkette, um so leichter wird sich das Molekül aus dem Innern der Lösung auf deren Oberfläche bringen lassen. Dagegen wird das Molekül um so schwerer in die Oberflächenschicht eindringen, je stärker seine Affinität zum Wasser ist. Beide Faktoren wirken also konkurrierend auf die Adsorption.

Für die Vergleichung der Oberflächenaktivität der hier in Betracht kommenden Stellungsisomere mit Kohlenstoffkette von gleicher Länge, indessen, würde der letztere Faktor eine massgebende Rolle spielen.

Nun, es scheint seit Bjerrum (1923) durch verschiedene Versuche ausser Zweifel gestellt worden zu sein, dass die neutralen Moleküle einer aliphatischen Aminosäure in wässriger Lösung fast ausschliesslich als Zwitterionen  $\text{H}_3\text{N}^+\text{-R-COO}^-$  vorhanden sind. In den zwei Zusammenstellungen<sup>(3)(7)</sup> von E. Cohn findet man ein Überblick über die zahlreichen Untersuchungen auf diesem Gebiet.

Solche Zwitterionen werden ausserordentlich grosses Dipolmoment besitzen und infolgedessen die Dielektrizitätskonstante des Wassers erhöhen (Debye). In der Tat ist durch die Untersuchungen von verschiedenen Autoren<sup>(7)</sup> bestätigt

worden, dass die Dielektrizitätskonstante  $D$  der wässrigen Aminosäurelösungen grösser als die Dielektrizitätskonstante  $D'$  des Wassers ist und sich linear mit der Konzentration  $C$  (Mol/L.) vermehrt:

$$D = D' + \delta C.$$

$\delta$ , das Inkrement der Dielektrizitätskonstante pro Mol pro Liter, wird erfahrungsgemäss bei  $\alpha$ -Aminosäuren durch die Länge der Kohlenstoffkette kaum beeinflusst, hängt aber bei  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ - und  $\epsilon$ -Aminosäuren eng mit der Gliederzahl  $n$  der die Amino- und Carboxylgruppe trennenden Kette zusammen, und zwar entsprechend der folgenden empirischen Formel:

$$\delta = 23 + 13,3 (n-1).$$

Hier stellt 23 den  $\delta$ -Wert für  $\alpha$ -Aminosäuren dar.

Nach der Wymänschen<sup>(8)</sup> Theorie, die sich auf einigen vereinfachenden Annahmen stützt, soll das Dipolmoment  $\mu$  und damit der Dipolabstand  $r$  der Aminosäure mit  $\sqrt{\delta}$  proportional ansteigen. W. Kuhn<sup>(9)</sup> wies darauf hin, dass ein  $\sqrt{n}$  proportionaler  $r$  auf Grund von „statistischen Betrachtungen“ zu erwarten sei. Jedenfalls dürfen wir trotz der infolge intramolekularer elektrostatischer Anziehung wahrscheinlich stattfindenden Krümmungen der Moleküle so gut wie sicher sagen, dass  $\mu$  mit der Entfernung der Amino- von der Carboxylgruppe zunimmt.

Im elektrischen Felde ringsum ein solches Zwitterion werden nun Wassermoleküle, die ebenfalls Dipole sind, Kraftwirkungen erfahren, wodurch sie in der nächsten Umgebung des ersteren zusammengepresst werden werden, und zwar um so dichter, je stärker das elektrische Feld ist. Solcher Hydratationseffekt wird dann zum Vorschein kommen, wenn man z.B. die spezifischen Gewichte der Lösungen von Stellungsisomeren der Aminosäure vergleicht. Dies geschieht in Fig. 2.

Daraus ersieht man, dass das spezifische Gewicht beim Übergang von  $\alpha$ - zu  $\delta$ - oder  $\epsilon$ -Aminosäure

eine wenn auch geringe, jedoch unverkennbare Zunahme aufweist. In diese Hinsicht hat E. Cohn<sup>(10)</sup> bereits darauf hingewiesen, dass die Elektrostriktion, d.h. die als durch die elektrostatische Wirkung der Zwitterionen verursacht zu betrachtende Kontraktion der Lösung, mit der Entfernung der Amino-

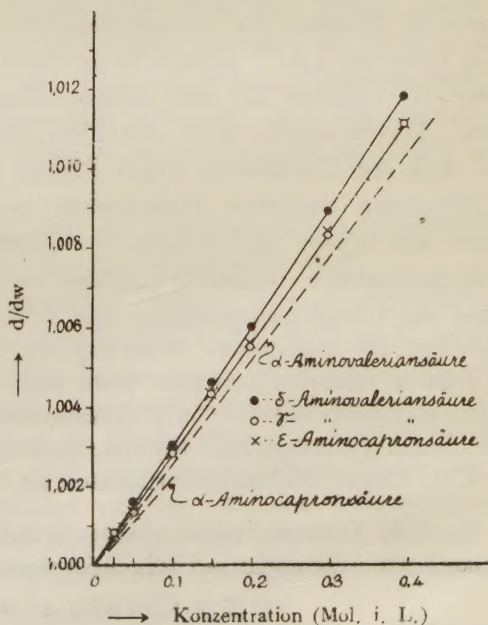


Fig. 3.



von der Carboxylgruppe im Molekül der gelösten Aminosäure zunimmt. Und zwar zeigten die  $\alpha$ -Aminomonocarbonsäuren fast unabhängig von der Kettenlänge eine Elektrostriktion von durchschnittlich 13,3 (ccm pro Mol);  $\gamma$ -Aminovaleriansäure und  $\epsilon$ -Aminocaprinsäure zeigten resp. solche von 15,9 und 17,3.

Somit ergibt sich die folgende Reihenfolge der Hydratation:

für Aminovalerinsäuren:  $\delta > \gamma > \alpha$ ,  
und für Aminocaprinsäuren  $\epsilon > \alpha$ .

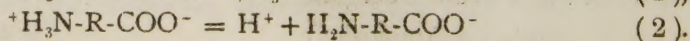
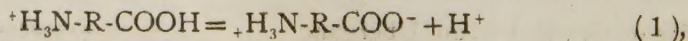
Hiermit steht im Einklang die Tatsache, dass die Löslichkeit<sup>(11)</sup> der Aminosäuren in Wasser mit der Entfernung zwischen den polaren Gruppen im Molekül zunimmt, wie z.B.  $\epsilon$ -Aminocaprinsäure bei 25°, ungefähr 40 mal so stark löslich ist wie  $\alpha$ -Aminocaprinsäure.

Zusammenfassend gelangen wir zu dem Schluss, dass eine Aminosäure bei gleichlanger Kohlenstoffkette infolge der zunehmenden Hydratation in dem Masse abnehmend an der Grenzfläche Luft/Wasser adsorbierbar und dementsprechend abfallend oberflächenaktiv wird, als die Entfernung der Amino- von der Carboxylgruppe im Molekül grösser wird.

Im Anschluss an diese Ausführungen sei noch hinzugefügt: Bei den Homologen der  $\alpha$ -Aminomonocarbonsäure scheint, wie schon angedeutet, das elektrische Moment der Zwitterionen fast unabhängig von der Kettenlänge gleich gross zu sein. Infolgedessen wird sich kein wesentlicher Unterschied in der Hydratation an den polaren Gruppen der einzelnen Glieder finden lassen. Davon würde wohl herrühren, dass hier auch, wie bei der Fettsäurereihe, sich die Traubesche Regel geltend macht.<sup>(12)</sup> Wegen der im Vergleich zu Fettsäuren stärkeren Hydratation indessen sind die niedrig stehenden Glieder wie Glycin und Alanin, im Gegensatz zu Essig- bzw. Propionsäure, oberflächeninaktiv; vielmehr erhöhen sie wie anorganische Salze gewissermassen die Oberflächenspannung des Wassers. Erst von  $\alpha$ -Aminobuttersäure an beginnt die hydrophobe Wirkung der Kohlenstoffkette zutage zu treten.

Dass  $\epsilon$ -Aminocaprinsäure trotz ihres grösseren elektrischen Moment in nahezu gleichem Masse wie  $\gamma$ -Aminovaleriansäure oberflächenaktiv ist, muss wohl darauf zurückgeführt werden, dass die Kohlenstoffkette der ersteren um eine  $\text{CH}_2$  länger als die der letzteren ist.

2. Die Dissoziation<sup>(13)</sup> einer aliphatischen Aminosäure in wässriger Lösung kann schematisch folgendermassen dargestellt werden:



Es überwiegt also die Kationen-Form auf der stark sauren Seite, die Zwitterionen-Form bei pH 1 und die Anionen-Form auf der stark alkalischen Seite.

Die beistehende Fig. 4 gibt den Verlauf der relativen Oberflächenspan-

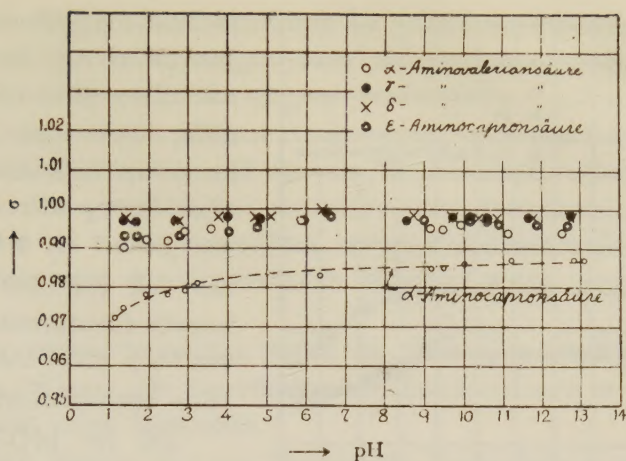


Fig. 4.

nung der 0,05 mol. Aminosäurelösungen in Abhängigkeit von der  $H^+$ -Ionenaktivität wieder. Daraus ersieht man, dass im ganzen untersuchten pH-Bereiche von 1,3 bis 12,7  $\gamma$ - und  $\delta$ -Aminovaleriansäure kaum auf die Oberflächenspannung des Wassers einwirken, während  $\alpha$ -Aminovaleriansäure sie merklich herabsetzt. Derartiger Unterschied tritt viel deutlicher bei  $\alpha$ - und  $\epsilon$ -Aminocapronsäure auf. Hieraus ergibt sich, dass das früher erwähnte Zusammenhang zwischen der Stellung der polaren Gruppen im Molekül und dessen Oberflächenaktivität auch bei den Aminosäure-Ionen bestehen bleibt.

Ausserdem sind, wie eingangs erwähnt, auch die Aminodicarbonsäuren und Diaminosäuren, deren Moleküle sämtlich polare Gruppen an beiden Kettenenden tragen, oberflächeninaktiv.

Nun, es ist nicht zu bezweifeln, dass ein Aminosäure-Ion hauptsächlich an seiner elektrisch geladenen polaren Gruppe hydratisiert ist.

Indessen wird auch noch die entladene Amino- bzw. Carboxylgruppe infolge ihres Dipolcharakters<sup>(14)</sup> mit  $\mu=1,5 \cdot 10^{-18}$  bzw.  $0,9 \cdot 10^{-18}$  e.s.E. gewisse Affinität zum Wasser aufweisen. Infolgedessen ist es nicht unmöglich, dass die Entfernung zwischen der geladenen und entladenen polaren Gruppen in demselben Molekül gewissermassen auf die Hydratation des Aminosäure-Ions als Ganzes beeinflussen wird, wenn auch nicht in so hohem Masse wie im Falle des Zwitterions, wobei die beiden polaren Gruppen entgegengesetzt geladen sind. Ausserdem würde sie möglicherweise gewissen Einfluss auf die Orientierung der an die Oberflächenschicht gelangenden Aminosäure-Ionen ausüben.

Somit entsteht für die oben erwähnte Erscheinung eine Erklärungsmöglichkeit, indem man die mit dem wachsenden Gruppenabstand parallel gehende Abnahme der Oberflächenaktivität der Aminosäure-Ionen als hauptsächlich durch die Wirkung der angeführten Einflüsse verursacht betrachtet.

3. Fig. 4 gibt den Verlauf der Adsorption der Aminosäuren an Kohle



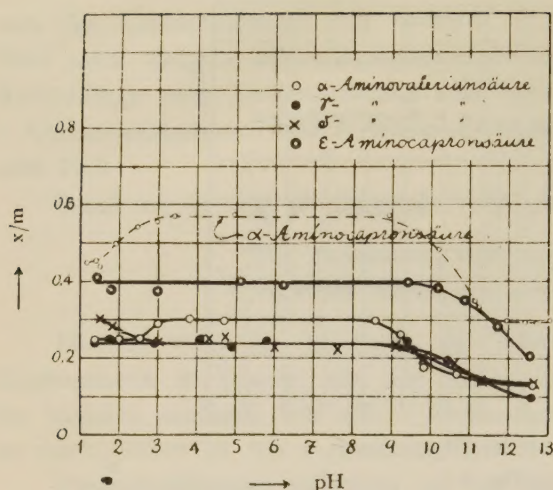


Fig. 4.

in Abhängigkeit von der  $H^+$ -Ionenaktivität der Gleichgewichtslösungen wieder. Man sieht, dass sich die Kurve für  $\alpha$ -Aminovaleriansäure durch ihren insbesondere im Bereiche von  $pH=3$  bis 9 höher liegenden Teil von den miteinander beinahe zusammenfallenden Kurven für  $\gamma$ - und  $\delta$ -Aminovaleriansäure unterscheidet.

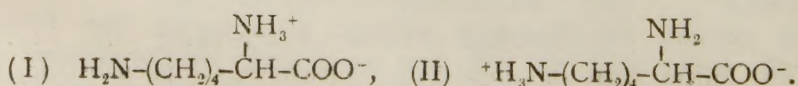
Da die  $pH$ -Werte<sup>(15)</sup> für  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Aminovaleriansäure resp. 6,04, 7,21 und 7,45 sind

(25°), so kann man auffassen, dass sich der Unterschied in den Adsorbierbarkeiten der genannten Aminosäuren am deutlichsten in deren isoelektrischen Zustand zu erkennen gibt. Geht man zu den Aminosäure-Kationen bzw. -Anionen über, so geht der betreffende Unterschied zurück. Ähnliches lässt sich auch bei  $\alpha$ - und  $\epsilon$ -Aminocaprinsäuren, deren isoelektrische Punkte<sup>(16)</sup> resp. bei  $pH=6,08$  und  $7,59$  liegen, sagen.

Ferner zeigen, wie aus Fig. 4 und auch aus unseren bisherigen Erfahrungen<sup>(1)</sup> hervorgeht, die  $x/m$ ,  $pH$ -Kurven für  $\alpha$ -Aminosäuren je einen den  $pH$  einschliessenden Maximumerhebungsanteil. Dies ist bei  $\gamma$ -,  $\delta$ - und  $\epsilon$ -Aminosäuren nicht mehr der Fall, indem die betreffenden Kurven bei steigendem  $pH$  anfangs annähernd parallel zur  $pH$ -Achse verlaufen, um schliesslich auf der stark alkalischen Seite zu sinken. Daraus folgt, dass hier die Aminosäure-Kationen ebenso stark und die Aminosäure-Anionen schwächer wie die entsprechenden neutralen Moleküle adsorbierbar sind. Auffallend ist, dass bei  $\delta$ -Aminovaleriansäure das Kation sogar stärker als das neutrale Molekül adsorbierbar ist.

Die Gestalt dieser Kurven ähnelt sich sehr der der  $x/m$ ,  $pH$ -Kurven für Arginin und Lysin,<sup>(17)</sup> abgesehen davon, dass bei diesen Diaminosäuren der höher liegende Kurventeil sich auf der stark alkalischen, anstatt der sauren, Seite befindet.

Nun, es sind für Aminosäuren mit drei polaren Gruppen zwei Zwitterionen-Formen möglich, wie dies am Beispiel von Lysin zu ersehen ist:



Der Form (I) wird ein etwa ebenso starkes Dipolmoment wie das der gewöhnlichen  $\alpha$ -Aminosäuren zugehören, und der Form (II) ein viel stärkeres.

Im isoelektrischen Zustand sind nach Edsall und Blanchard<sup>(18)</sup> Arginin



und Lysin überwiegend als Zwitterionen mit stärkerem Dipolmoment (Form II) vorhanden, während bei Asparagin- bzw. Glutaminsäure solche mit schwächerem Dipolmoment (Form I) überwiegen.

Es ist also gerade bei solchen Aminosäuren, welche in wässriger Lösung überwiegend als Zwitterionen mit starkem Dipolmoment vorhanden sind, dass man das von den gewöhnlichen  $\alpha$ -Aminosäuren abweichende Verhalten bei der Adsorption an Kohle beobachtet, indem die Adsorbierbarkeit von einer der beiden Ionenarten der des neutralen Moleküls gleich oder nahezu gleich kommt.

Vielleicht können in solchen Fällen die Zwitterionen infolge ihrer starken Affinität zum Wasser die betreffenden Aminosäure-Ionen in Bezug auf die Adsorbierbarkeit nicht übertreffen.

Schliesslich erkennt man aus Fig. 4, dass Aminocapronsäuren stärker als Aminovaleriansäuren durch Kohle aufgenommen werden, was offenbar auf die stärkere hydrophobe Wirkung der Kohlenstoffkette der ersteren zurückgeführt werden muss.

Vergleicht man zusammenfassend das Verhalten der untersuchten Aminosäuren an der Grenzfläche Luft/Wasser und an der Grenzfläche Kohle/Wasser, so findet man dazwischen nur einen teilweisen Parallelismus, was auch bei anderen Stoffen<sup>(19)</sup> bereits wiederholt beobachtet worden ist.

#### LITERATUR

- (1) Ito: Diese Zeitschr., **8**, 60 u. 63 (1932).
- (2) Freundlich: Kapillarchemie, Leipzig, (1923), S. 78.
- (3) Cohn: Ergebnisse Physiol., **33**, 834 (1931).
- (4) Phelps u. Peters: Proc. Roy. Soc. London, A, **124**, 554 (1929).
- (5) Traube: Ann., **265**, 27 (1891).
- (6) Langmuir: J. Amer. Chem. Soc., **39**, 1848 (1917); Harkins u. Mitarbeiter: Ibid., **39**, 354 (1917); Frumkin: Z. phys. Chem., **116**, 501 (1925); Bresler u. Mitarbeiter: Ibid., **165**, 195 (1933).
- (7) Cohn: Ann. Rev. Biochem., **4**, 93 (1935).
- (8) Wyman: J. Amer. Chem. Soc., **56**, 536 (1934); Greenstein, Wyman u. Cohn: Ibid., **57**, 637 (1935).
- (9) Kuhn: Ber., **67**, 1526 (1934).
- (10) Cohn u. Mitarbeiter: J. Biol. Chem., **100**, xxviii (1933); J. Amer. Chem. Soc., **56**, 784 (1934).
- (11) Dalton u. Schmidt: J. Biol. Chem., **103**, 549 (1933); Cohn u. Mitarbeiter: J. Amer. Chem. Soc., **56**, 2270 (1934).
- (12) Ito: diese Zeitschr., **6**, 13 u. 77 (1930).
- (13) Michaelis u. Mizutani: Z. phys. Chem., **116**, 135 (1925).
- (14) William: Molekulare Dipolmomente u. ihre Bedeutung f. chem. Forschung, Berlin 1930, S. 36.
- (15) Schmidt u. Mitarbeiter: J. Biol. Chem., **81**, 723 (1929).
- (16) Kirk u. Schmidt: Ibid., **81**, 247 (1929); pHI für  $\epsilon$ -Aminocapronsäure wurde berechnet aus den Daten von Edsall u. Blanchard: J. Amer. Chem. Soc., **55**, 2344 (1933).
- (17) Vgl. V. Mittl. dieser Reihe.
- (18) Edsall u. Blanchard: l. c.
- (19) Vgl. z. B. Frumkin: Trav. Chim. Pays-Bas, **48**, 288 (1929).

**On the Estimation of Certain Elements with the Spectrograph by Arc Process.** (pp. 216~248): By K. KONISHI and T. TSUGE.  
(Institute of agr. chem. Imp. University, Kyoto.)

The writers investigated the emission spectra of several metallic elements ordinarily contained in soils and plants, and as well as those rarely present in exceedingly small quantities. The relation between decrease of elements in concentration and changes in intensity of lines for a given change in concentration were also studied with 31 elements. Except As, B, Cr, F, Mo, P, Pb, Si and V, all 22 kinds of elements under consideration were used as chlorides. A device consisted of an electric moter, by which the positive electrode automatically revolved, was so connected to prevent the arc from point to point on the surface of graphite electrodes. Arc light 5 mm long was struck between carbon electrodes (Siemens-Planina), into the small hole of which 0.1 cc of the solutions in various concentration was dropped and dried; in cases of Ca, Al, Cu, Fe, Mg, Si, Mn, B and Ti concerned, it might be desirable to use graphite electrodes (Archison Graphite Co.) than carbon. Ninety seconds exposures were given with each samples using an arc carrying 10 amperes with a 60-volt drop across the arc terminals.

The spectra were photographed on panchromatic plates in usual manner with Adam Hilgar's spectrograph E 3. It was pointed out, that the spectrograph E 3. It was pointed out, that the sensitivities have been specially determined for arc excitation under the condition described. In several cases, it was found that they differed from those given by de Gramont and the others. With fluorine the characteristic  $\text{CaF}_2$  band at 5291 Å was useful in detection. The arc sensitivities or minimum quantities of inquired elements being detected are shown as follows.

Arc sensitivities (mg)	Names of elements
$1 \times 10^{-4} \sim 5 \times 10^{-4}$	Ag B Ca Cd Co Mg Na
$5 \times 10^{-4} \sim 10 \times 10^{-4}$	Cr Cu Fe Li Mn Si Sr
$10 \times 10^{-4} \sim 50 \times 10^{-4}$	Al Ba Ni Pb Sn Ti V
$50 \times 10^{-4} \sim 100 \times 10^{-4}$	As F Mo Sb Zn
$100 \times 10^{-4} \sim 500 \times 10^{-4}$	Hg P K
$500 \times 10^{-4} \sim 1000 \times 10^{-4}$	Rb
more than $1000 \times 10^{-4}$	Cs

The arc process is considered more desirable than the chemical analysis in its simplicity, and main advantages are speed, sensivity and certainty in identification of contents being determind, as demonstrated in the writer's papers (Showa 8 and in press).

K. Konishi and T. Tsuge: Bull. agr. chem. Soc. Japan, 9, 23~26 (1933).

" " " : On the mineral matters of certain leguminous crops, (in press).



**On Some Antiseptics for Sake.** (pp. 249~255): By Benzabro KATO & Iwao MATSUDA. (Chemical Laboratory of Yakumo Rikagaku Kenkyusho.)

The authors observed that the antiseptic power of  $\beta$ -oxy naphthoic acid, its salts and esters was stronger than that of Salicylic acid or butyl ester of *p*-oxy benzoic acids.

The results as follow :

Samples used	Amounts needed for preservation, (%)
$\beta$ -Oxy naphthoic acid,	0.005
Na- $\beta$ -oxy naphthoic acid,	0.005
K- $\beta$ -oxy naphthoic acid,	0.005
Methyl ester of $\beta$ -oxy naphthoic acid.	0.007
Acetyl $\beta$ -oxy naphthoic acid,	0.006
Butyl ester of <i>p</i> -oxy benzoic acid,	0.009
Salicylic acid,	0.025

**Nutritive Value of Canavanin (amino acid).** (pp. 256~259): By Masayoshi OGAWA. (Department of Nutrition, Tokyo Municipal Hyg. Lab.)

In the previous communication, the author reported that amino acid called Canavanin was an essential amino acid for growth in the early life of the animals.

In the present report, the author tried to determine a nutritive value of Canavanin employing a number of male albino rats which have already grown up to about 109.3 grams.

Divided the animals into 2 groups and fed them on a diet deficient in Canavanin. To the group I, gave Canavanin 0.5 grams per kilo gram body weight per day, and to the group II did not give any Canavanin.

Those animals were fed for 31 days and obtained the following results.

1) Those two groups animals were sound and well, and no one died during the experiment.

2) The gain of the body weight of the both groups were almost same, namely the group I, 84.6 grams, group II 84.7 grams during the experiment.

3) The amount consumption of diet of the each animals per day were 14.2 grams in the first group and 14.4 grams in the second group.

From the above results the author concluded that the Canavanin was an essential for the growth in the early life of the animals, but not essential in the later life of the growing period.

**Influence of (N, P, K, Ca) Simply on the Yield, Ash-constituents ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ), Nitrogen and Carbohydrate Content of Unhulled Rice.** (pp. 260~278): By Chikafumi ICHIKAWA. (Gifu Agricultural College.)

**On the Change of Hesperidin Content of the Peel of Mandarin Orange during its Ripening, together with the Content of Hesperidin in the Juice, Imbedded Fibre (white Fibre on the Segments) and the Endocarp of the Ripened Fruit.** (pp. 279~280): By Yasuo IWASAKI. (Chiba Horticultural College, Matsudo-machi, Chibaken, Japan.)

The content of hesperidin is determined by the extraction of the dried substance with methanol.

The variation of the hesperidin content of the peel of mandarin oranges during ripening are as follows:—

Date of gathering	Number of oranges	Average weight of one orange (g)	Maturity	Water in the fresh peel (%)	Hesperidin in dried peel (%)	Hesperidin in fresh peel (%)
Sep. 6th	140	46.9	green	73.4	10.86	2.89
Oct. 5th	67	77.2	"	74.6	10.19	2.59
Nov. 5th	57	95.4	Greenish yellow	74.5	7.28	1.86
Dec. 6th	75	81.3	Orange, ripened	75.4	6.73	1.65

The hesperidin content of the peel, of the imbedded fibre, of the endocarp and of the juice of ripened oranges are as follows:—

Material	Water	Hesperidin in the dried matter, (%)	Hesperidin in the fresh matter, (%)	Hesperidin in the juice 1000 cc, (g)
Peel	72.2	5.68	2.03	—
Imbedded fibre	60.2	5.24	2.47	—
Endocarp	80.7	1.10	0.22	—
Juice	—	—	—	0.2

From the above results, the hesperidin content of the peel gradually decreases according to the maturity, and the content of dried white fibre on the segments, is smaller than that of the dried peel, but in the fresh state, the content of the former is a little larger than that of the latter. The juice contains hesperidin only very little.